

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representation of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY

As rescanning documents *will not* correct images, please do not report the images to the Image Problem Mailbox.



Search Result

Rank 1 of 1

Database
WPI

(c)1998 Derwent Info Ltd. All rights reserved.

199703

Micro-manipulation appts. - comprises fluid-filled micro-pipette,
piezoelectric element contacted with fluid via diaphragm, and power
source for piezoelectric element

Patent Assignee: PRIMA MEAT PACKERS LTD (PRIM-N)

Number of Countries: 001

Number of Patents: 002

Patent Family:

| Patent No | Kind | Date | Applicat No | Kind | Date | Main IPC | Week |
|------------|------|----------|-------------|------|----------|-------------|----------|
| JP 8290377 | A | 19961105 | JP 9597143 | A | 19950421 | B25J-007/00 | 199703 B |
| JP 2783984 | B2 | 19980806 | JP 9597143 | A | 19950421 | C12M-001/00 | 199836 |

Priority Applications (No Type Date): JP 9597143 A 19950421

Patent Details:

| Patent | Kind | Lan | Pg | Filing Notes | Application | Patent |
|------------|------|-----|----|----------------|-------------|------------|
| JP 8290377 | A | | 9 | | | |
| JP 2783984 | B2 | | 10 | Previous Publ. | | JP 8290377 |

Abstract (Basic): JP 8290377 A

The micro-manipulation appts. comprises a micro-pipette (21) filled
with a fluid, a piezoelectric element (28) disposed through a diaphragm
contacting the fluid, and a power source (29) driving the piezoelectric
element (28). The fluid in the micro-pipette (21) is driven by driving
the piezoelectric element (28).

JSE - The micro-manipulation appts. gives reliable insertion into
cells, and smooth operation.

Dwg.1/10

Title Terms: MICRO; MANIPULATE; APPARATUS; COMPRISE; FLUID; FILLED; MICRO;
PIPETTE; PIEZOELECTRIC; ELEMENT; CONTACT; FLUID; DIAPHRAGM; POWER; SOURCE
; PIEZOELECTRIC; ELEMENT

Derwent Class: D16; J04; P62; P81; V06; X25

International Patent Class (Main): B25J-007/00

International Patent Class (Additional): C12M-001/00; G02B-021/32

File Segment: CPI; EPI; EngPI

Manual Codes (CPI/A-N): D05-H; J04-B

Manual Codes (EPI/S-X): V06-M06D; X25-A03E

<Image 1 (8.50" X 11.00") is available via Offline Print to FAX>

END OF DOCUMENT

4136

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平8-290377

(43) 公開日 平成8年(1996)11月5日

(51) Int.Cl.⁹

B 2 6 J 7/00

G 0 2 B 21/32

// C 1 2 M 1/00

識別記号

片内整理番号

F I

B 2 5 J 7/00

G 0 2 B 21/32

C 1 2 M 1/00

技術表示箇所

A

審査請求 有 請求項の数 7 O L (全 9 頁)

(21) 出願番号

特願平7-97143

(22) 出願日

平成7年(1995)4月21日

(71) 出願人 000113067

プリマハム株式会社

東京都品川区東大井3丁目17番4号

(72) 発明者 上野 久雄

茨城県土浦市中向原635 プリマハム株式
会社技術開発センター内

(72) 発明者 三松 淳

茨城県土浦市中向原635 プリマハム株式
会社技術開発センター内

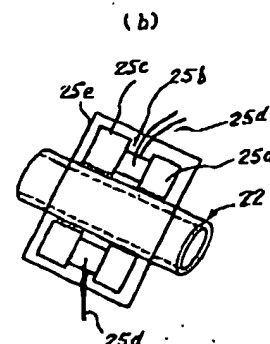
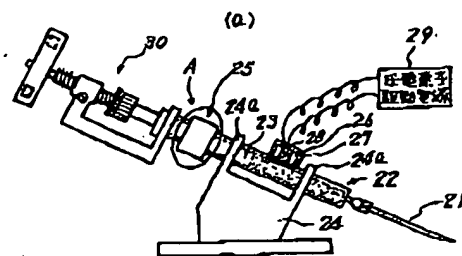
(74) 代理人 弁理士 清水 守 (外1名)

(54) 【発明の名称】 マイクロマニピュレーション装置及びそれを用いた細胞操作方法

(57) 【要約】

【目的】 細胞に対して的確に挿入することができるとともに、細胞操作を円滑に行い得る動作流体を、直接的に駆動するマイクロマニピュレーション装置及びそれを用いた細胞操作方法を提供する。

【構成】 マイクロマニピュレーション装置において、配管内に流体が充填されるマイクロピペット21と、前記流体に接触するダイヤフラム27を介して配置される圧電素子28と、この圧電素子28を駆動する駆動電源29とを備え、前記圧電素子28の駆動により前記マイクロピペット21内の流体を駆動するようにしたものである。



(2)

特開平8-290377

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 マイクロマニピュレーション装置において、(a)配管内に流体が充填されるマイクロビペットと、(b)前記流体に接触するダイヤフラムを介して配置される圧電素子と、(c)該圧電素子を駆動する駆動電源とを備え、(d)前記圧電素子の駆動により前記マイクロビペット内の流体を駆動することを特徴とするマイクロマニピュレーション装置。

【請求項2】 マイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法において、(a)固定された卵細胞にマイクロビペットを接触させる工程と、(b)前記マイクロビペットに連通する流体に接触するダイヤフラムを介して配置される圧電素子の駆動により前記マイクロビペット内の流体の吸引を行い、前記細胞の透明帯の微小部分を弱体化又は開孔する工程と、(c)該弱体化又は開孔された卵細胞の透明帯の微小部分に前記マイクロビペットを挿入する工程とを施すことを特徴とするマイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法。

【請求項3】 請求項2記載のマイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法において、前記(c)工程における挿入されたマイクロビペットを前記圧電素子の駆動により卵細胞の細胞膜の微小部分を弱体化又は開孔し、該卵細胞の細胞質を前記マイクロビペットで吸引することを特徴とするマイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法。

【請求項4】 請求項2記載のマイクロマニピュレーション装置による細胞操作方法において、前記(c)工程における挿入されたマイクロビペットを前記圧電素子の駆動により卵細胞の細胞膜の微小部分を弱体化又は開孔し、該卵細胞の細胞質内に前記マイクロビペットで薬液、DNA溶液、精子、細胞の核などの物質を注入することを特徴とするマイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法。

【請求項5】 請求項2記載のマイクロマニピュレーション装置による細胞操作方法において、前記(c)工程における挿入されたマイクロビペットを卵細胞の細胞膜の手前に位置決めし、精子を注入することを特徴とするマイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法。

【請求項6】 マイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法において、(a)固定された動物細胞にマイクロビペットを接触させる工程と、(b)前記マイクロビペットに連通する流体に接触するダイヤフラムを介して配置される圧電素子の駆動により前記マイクロビペット内の流体の吸引を行い、前記動物細胞の細胞膜の微小部分を弱体化又は開孔する工程と、(c)該弱体化又は開孔された動物細胞の細胞膜の微小部分に前記マイクロビペットを挿入する工程とを施すことを特徴とするマイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法。

2

【請求項7】 マイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法において、(a)固定された植物細胞にマイクロビペットを接触させる工程と、(b)前記マイクロビペットに連通する流体に接触するダイヤフラムを介して配置される圧電素子の駆動により前記マイクロビペット内の流体の吸引を行い、前記植物細胞の細胞膜の微小部分を弱体化又は開孔する工程と、(c)該弱体化又は開孔された植物細胞の細胞膜の微小部分に前記マイクロビペットを挿入する工程とを施すことを特徴とするマイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、マイクロマニピュレーション装置及びそれを用いた細胞操作方法に関する。

【0002】

【従来の技術】従来、このような分野の技術としては、以下に示すようなものがあった。図9は従来のマイクロマニピュレーションシステムの全体構成図である。図中、1はベース、2はベース1上に配置された顕微鏡、3は位置検出器、4は微動部、5は粗動部、6はTVカメラ、7はマイクロインジェクタ、8は左操作ボックス、9は右操作ボックス、10はカメラ制御ユニット、11はビデオモニタ、12は主制御ユニットである。

【0003】この図に示すように、2つの操作ボックス8、9では、左右の微動部4、粗動部5を操作する一方で、注入液量測定など各種の機能の制御も行う。また、顕微鏡2にはTVカメラ6が設けられており、細胞の形態や微細操作の様子がビデオモニタ11に写し出され、観察される。ここで、マイクロインジェクタ7はノブを有し、マイクロマニピュレーション操作は、専ら操作者の手によって行われている。

【0004】また、マイクロマニピュレータで用いられるマイクロビペットは、通常ガラス製であり、熱加工される。このマイクロビペットを細胞に対して挿入し、細胞の内容物を吸引したり、あるいは、外部から薬液、DNA溶液、精子、細胞の核等の物質を注入させるために、マイクロビペットの先端は穴のあいた針のようになっている。

【0005】操作対象の細胞の性質、あるいはマイクロビペットの先端の径、先端の形状により挿入のし易さは異なるが、一般に容易ではなく、針先を砥石で研磨し鋭利にする。または、マイクロビペットの先端を更に熱加工し、細いスパイクを作る。あるいは針先を軸線方向に振動させるなど工夫を凝らされている。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】このように、従来のマイクロマニピュレータによれば、細胞の操作には不十分であり、満足のいくものではなかった。特に、細胞の外皮を貫通する場合には、内部に大きなダメージを与え、

50

(3)

特開平8-290377

3

その細胞の操作における成功率は低く、信頼性の面で問題があった。

【0007】図10はかかる従来の細胞操作の一例を示す工程図である。

(1) まず、図10(a)に示すように、吸着孔を有する保持ピペット13で細胞14を保持する。

(2) 次に、図10(b)に示すように、細胞14の透明帯15にマイクロピペット18の先端を押し当てて透明帯15を貫通する。しかし、透明帯15は結構厚いので、細胞14の卵細胞質16にダメージを与えることになる。この透明帯15を貫通し易いように、マイクロピペット18自体を圧電素子の駆動により振動させるようにしたものが提案されている(例えば、特開平6-90770号公報参照)が、それでも、卵細胞質16にダメージを与えることは避けられない。また、マイクロピペット18の針先は卵細胞質16の奥深くまで挿入されてしまい、不用意に細胞を傷つける結果になる。

【0008】(3) 次に、図10(c)に示すように、マイクロピペット18が卵細胞膜17を貫通して、卵細胞質16へ刺入されて、薬液の注入が行われる。また、上記したマイクロピペットによる透明体の貫通時の卵細胞質のダメージをやわらげるために、圧電素子によるマイクロピペットの微小移動を行わせるようにしたものが、本願出願人等によって提案されている(特公平6-98582号公報、特公平6-98583号公報、特公平6-98584号公報等参照)。

【0009】本発明では、上記圧電素子によるマイクロピペットの微小移動に加えて、更に、マイクロピペット内の流体を、ダイヤフラムを介して別の圧電素子の駆動により、直接的に駆動し、細胞の操作を行うようにしている。本発明は、上記した従来のマイクロピペットのように、砥石での研磨や先端のスパイク加工などを必要とせず、細胞に対して的確に挿入することができるとともに、細胞操作を円滑に行い得る動作流体を、直接的に駆動するマイクロマニピュレーション装置及びそれを用いた細胞操作方法を提供することを目的とする。

【0010】

【課題を解決するための手段】本発明は、上記目的を達成するために、

(1) マイクロマニピュレーション装置において、配管内に流体が充填されるマイクロピペットと、前記流体に接触するダイヤフラムを介して配置される圧電素子と、この圧電素子を駆動する駆動電源とを備え、前記圧電素子の駆動により前記マイクロピペット内の流体を駆動するようにしたものである。

【0011】(2) マイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法において、固定された卵細胞にマイクロピペットを接触させる工程と、前記マイクロピペットに連通する流体に接触するダイヤフラムを介して配置される圧電素子の駆動により前記マイクロピペット内の

4

流体の吸引を行い、前記卵細胞の透明帯の微小部分を弱体化又は開孔する工程と、この弱体化又は開孔された卵細胞の透明帯の微小部分に前記マイクロピペットを挿入する工程とを施すようにしたものである。

【0012】(3) 上記(2)記載のマイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法において、前記挿入されたマイクロピペットを前記圧電素子の駆動により卵細胞の細胞膜の微小部分を弱体化又は開孔し、この卵細胞の細胞質を前記マイクロピペットで吸引するようにしたものである。

(4) 上記(2)記載のマイクロマニピュレーション装置による細胞操作方法において、前記挿入されたマイクロピペットを前記圧電素子の駆動により卵細胞の細胞膜の微小部分を弱体化又は開孔し、この卵細胞の細胞質内に前記マイクロピペットで薬液、DNA溶液、精子、細胞の核などの物質を注入するようにしたものである。

【0013】(5) 上記(2)記載のマイクロマニピュレーション装置による細胞操作方法において、前記挿入されたマイクロピペットを卵細胞の細胞膜の手前に位置決めし、精子を注入するようにしたものである。

(6) マイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法において、固定された動物細胞にマイクロピペットを接触させる工程と、前記マイクロピペットに連通する流体に接触するダイヤフラムを介して配置される圧電素子の駆動により前記マイクロピペット内の流体の吸引を行い、前記動物細胞の細胞膜の微小部分を弱体化又は開孔する工程と、この弱体化又は開孔された動物細胞の細胞膜の微小部分に前記マイクロピペットを挿入する工程とを施すようにしたものである。

【0014】(7) マイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作方法において、固定された植物細胞にマイクロピペットを接触させる工程と、前記マイクロピペットに連通する流体に接触するダイヤフラムを介して配置される圧電素子の駆動により前記マイクロピペット内の流体の吸引を行い、前記植物細胞の細胞膜の微小部分を弱体化又は開孔する工程と、この弱体化又は開孔された植物細胞の細胞膜の微小部分に前記マイクロピペットを挿入する工程とを施すようにしたものである。

【0015】

【作用】本発明によれば、圧電素子を駆動すると、ダイヤフラムを介してマイクロピペット内の流体を駆動させることができる。卵細胞に対しては、まず、マイクロピペットを卵細胞の透明帯に接触させ、圧電素子を駆動させて、マイクロピペット内を負圧にすると、透明帯がマイクロピペットの先端に吸着されて、その吸着された透明帯の微小部分が弱体化又は穿通される。

【0016】そこで、マイクロピペットをその部分から卵細胞内に微小移動させる。更に、卵細胞の細胞膜に対しても圧電素子の駆動により、その微小部分を弱体化又は穿通することができる。そして、圧電素子を駆動させ

(4)

特開平8-290377

5

て、マイクロビペット内を負圧にして、マイクロビペットの先端から細胞質を吸入したり、圧電素子を駆動させて、マイクロビペット内を正圧にして、マイクロビペット内の精子を細胞質に注入することができる。

【0017】また、動物細胞に対しては、まず、マイクロビペットを動物細胞の細胞膜に接触させ、圧電素子を駆動させて、マイクロビペット内を負圧にすると、細胞膜がマイクロビペットの先端に吸着されて、その吸着された細胞膜の微小部分が弱体化又は穿通される。そこで、マイクロビペットをその部分から細胞膜に微小移動させる。

【0018】そして、圧電素子を駆動させて、マイクロビペット内を負圧にして、マイクロビペットの先端から細胞質を吸入したり、圧電素子を駆動させて、マイクロビペット内を正圧にして、マイクロビペット内へ薬液、DNA溶液、精子、細胞の核などの物質を注入することができる。このような操作により、動物細胞内の細胞質に何らダメージを与えることなく、細胞の操作を行うことができる。

【0019】更に、植物細胞に対しては、まず、マイクロビペットを植物細胞の細胞壁に接触させ、圧電素子を駆動させて、マイクロビペット内を負圧にすると、細胞壁がマイクロビペットの先端に吸着されて、その吸着された細胞壁の微小部分が弱体化又は穿通される。そこで、マイクロビペットをその部分から細胞壁内に微小移動させる。

【0020】そして、圧電素子を駆動させて、マイクロビペット内を負圧にして、マイクロビペットの先端から細胞質を吸入したり、圧電素子を駆動させて、マイクロビペット内を正圧にして、マイクロビペット内へ薬液や細胞の核などの物質を注入することができる。上記した機構は、換言すれば、マイクロビペットの近傍に配置された圧電素子によるマイクロピストン機構であると言える。

【0021】

【実施例】以下、本発明の実施例について図面を参照しながら詳細に説明する。図1は本発明の第1実施例を示すマイクロマニピュレーション装置の概略図であり、図1(a)はそのマイクロマニピュレーション装置の全体構成図、図1(b)はそのA部(微小移動機構)の拡大図である。

【0022】この図に示すように、マイクロビペット21をマイクロシリンジ22に取り付け、このマイクロシリンジ22はスクリュ付注射器の構造をしており、マイクロインジェクタ30(例えば、本願出願人の提案に係る特開平3-119989号公報参照)によって、正・負の圧力を加えることができるが、また、マイクロシリンジ22は微小移動機構25により、直線方向へ移動可能にする。

【0023】更に、この実施例では、マイクロシリンジ

6

22の一部にチャンバー26を設け、マイクロシリンジ22内の流体に接触するようにダイヤフラム27を設け、このダイヤフラム27とチャンバー26間に圧電素子28を配置して、この圧電素子28を圧電素子駆動電源29からの印加電圧によって駆動して、マイクロシリンジ22内の流体を駆動することができる。なお、24はマイクロシリンジホルダであり、係合部24aにおいて摩擦係合させるようにしている。23はプランジャである。

【0024】したがって、圧電素子28の縮小により、マイクロシリンジ22内の流体は負圧となり、マイクロビペット21により試料の吸入を行うことができ、圧電素子28の伸長により、マイクロシリンジ22内の流体は正圧となり、マイクロビペット21から流体を試料へ注入することができる。また、図1(b)に示すように、微小移動機構25は、図1(b)に示すように、マイクロシリンジ22に固定される鈎25aと、この鈎25aに固定される圧電素子25bと、この圧電素子25bに取り付けられる慣性体25cとを有し、圧電素子25bにはリード線25dにより、パルスが加えられる。また、25eはカバーである。

【0025】図2は本発明の第2実施例を示すマイクロマニピュレーション装置の構成図であり、図2(a)はそのマイクロマニピュレーション装置の全体構成図、図2(b)はそのマイクロマニピュレーション装置のマイクロシリンジ部の要部断面図、図2(c)はそのマイクロマニピュレーション装置の直線方向への微小移動機構である。

【0026】図2(a)において、31はベース、32はステージ、33はマイクロシリンジホルダ、35は微小移動機構であり、図2(c)に示すように、鈎35aに固定される圧電素子35bと、この圧電素子35bの後端に固定される慣性体35cを具備する直線方向への微小移動機構35であり、圧電素子35bにはリード線35dが接続されて、駆動パルス印加される(詳細は、特公平6-98582号公報参照)。

【0027】また、40はマイクロシリンジであり、このマイクロシリンジ40の後端部には上記した微小移動機構35が配置されている。このマイクロシリンジ40はマイクロシリンジホルダ33の係合部34で摩擦係合するようになっている。また、マイクロシリンジ40の先端にはマイクロビペット41が装着されている。50はこのマイクロインジェクション装置のマイクロビペット41の駆動を行うための微小移動機構35を駆動するための制御ボックス、51は位置検出器、52は顕微鏡である。

【0028】この実施例においては、更に、図2(b)に示すように、マイクロシリンジ40に、凸状のフレーム53を設けて、チャンバー54を形成し、マイクロシリンジ40内の流体57に接触するようにダイヤフラム

10

20

30

40

50

(5)

特開平8-290377

7

55をチャンバー54の底部に張設し、そのダイヤフラム55と凸状のフレーム53間に圧電素子56を配置する。この圧電素子56は、圧電素子駆動電源58からの直流印加電圧Vによって、縮小・伸長駆動可能である。

【0029】なお、この圧電素子駆動電源58は、前記した制御ボックス50に統合し、総合的に制御するようにしてもよいことは言うまでもない。図3は本発明の第3実施例を示すマイクロマニピュレーション装置のマイクロピペットによる細胞操作状態を示す図である。図3に示すように、吸着孔62を有する保持ピペット61によって卵細胞63を固定する。その卵細胞63の透明帯64にマイクロピペット71の先端を接触させる。ここで、マイクロピペット71の先端の部分には、培養液、DNA液や精子を有する浮遊液72などが入っている。その液体の後方には動作流体73が充填されている。さらには、ダイヤフラムの後方に電磁弁を設けることにより、動作流体73の容量を少なくしてピストン効果を高めることができる。

【0030】このようにして、ダイヤフラムを介した圧電素子（図示なし）の駆動により、マイクロピペット71の内部を負圧にして、卵細胞63の微小部分を吸着して、その微小部分を弱体化乃至穿通する。なお、65は細胞質、66は細胞質を包む細胞膜である。そこで、制御ボックス50（図2参照）からのパルスによる圧電素子の駆動により、マイクロピペット71を前方へ微小移動機構35を駆動することにより、前記した弱体化乃至穿通された卵細胞63の微小部分にマイクロピペット71を挿入し、卵細胞63の内部にマイクロピペット71を進める（図示なし）。

【0031】以下、本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた細胞操作について説明する。図4は本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第1の細胞操作工程図である。ここでは、卵細胞の操作（顕微授精）について説明する。

（1）まず、図4（a）に示すように、吸着孔62を有する保持ピペット61で卵細胞63を保持した後、その卵細胞63の透明帯64に、マイクロピペット81の先端を接触させる。

【0032】（2）次に、図4（b）に示すように、電磁弁85を閉じて、圧電素子84が縮小するように駆動して、液体86を負圧にして透明帯64の微小部分を吸着して、その微小部分を弱体化乃至穿通する。

（3）次いで、図4（c）に示すように、電磁弁85は閉じたままで、透明帯64の弱体化乃至穿通した微小部分にマイクロピペット81を微小移動して、細胞膜66の微小部分を圧電素子84が縮小するように駆動して、液体86を負圧にして細胞膜66の微小部分を吸着して、その微小部分を弱体化乃至穿通してマイクロピペット81を細胞質65内に挿入する。

【0033】そこで、圧電素子84を伸長して、マイ

8

クロピペット81内の液体86を駆動して細胞質65内に注入する。ここで、液体86としては、例えば、薬液、DNA溶液、精子、細胞の核などの物質である。なお、82は凸状のフレーム、83はダイヤフラムである。図5は本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第2の細胞操作工程図である。ここでは、マイクロピペット81の先端部には精子浮遊液とともに、精子が存在する液体87を入れておく。

【0034】（1）まず、図5（a）に示すように、吸着孔62を有する保持ピペット61で卵細胞63aを保持した後、その卵細胞63aの透明帯64に先端内径約5μmのマイクロピペット81の先端を接触させる。

（2）次に、図5（b）に示すように、電磁弁85を閉じて、凸状のフレーム82とダイヤフラム83間に設けられる圧電素子84が縮小するように駆動して、液体87を負圧にして透明帯64の微小部分を吸着して、その微小部分を弱体化乃至穿通する。

【0035】（3）次いで、図5（c）に示すように、電磁弁85は閉じたままで、透明帯64の弱体化乃至穿通した微小部分に、マイクロピペット81を微小移動して、透明帯64にマイクロピペット81の先端を通過させ、細胞質65aの手前に位置決めし、そこで、電磁弁85を開じたままで、圧電素子84を伸長して、マイクロピペット81から精子浮遊液とともに、精子が存在する液体87を注入する。

【0036】すると、自力では透明帯64を穿通できない液体87内の精子も細胞膜66aは薄いので、自力で細胞質65a内に進入することができる。その後、圧電素子84を縮小して、マイクロピペット81を負圧にして、注入された精子浮遊液を吸引、回収する。最後に、マイクロピペット81を抜去する。

【0037】図6は本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第3の細胞操作工程図である。ここでも、卵細胞の操作について説明する。

（1）まず、図6（a）に示すように、吸着孔62を有する保持ピペット61で卵細胞63を保持した後、その卵細胞63の透明帯64にマイクロピペット81の先端を接触させる。

【0038】（2）次に、図6（b）に示すように、電磁弁85を閉じて、凸状のフレーム82とダイヤフラム83間に設けられる圧電素子84が縮小するように駆動して、液体88を負圧にして透明帯64の微小部分を吸着して、その微小部分を弱体化乃至穿通する。

（3）次いで、図6（c）に示すように、電磁弁85は閉じたままで、透明帯64の弱体化乃至穿通した微小部分にマイクロピペット81を微小移動する。そこで、圧電素子84が縮小するように駆動して、液体88を負圧にして細胞膜66の微小部分を吸着して、その微小部分を弱体化乃至穿通してマイクロピペット81を細胞質65内に挿入する。

(6)

特開平8-290377

9

10

【0039】そこで、圧電素子84を縮小して、マイクロビベット81内の液体88を駆動して負圧にし、細胞質65内から細胞質をマイクロビベット81に吸入する。このように、上記実施例によれば、透明帯の局所のみ応力がかかり、また、マイクロビベットは挿入された時点でも、細胞の中に必要以上に挿入されることがなく、細胞へのダメージが小さい。

【0040】また、圧電素子の縮小・伸長の程度を、印加されるパルスの高さ、パルス幅等を調整することにより、注入・吸入圧力や、注入・吸入量を変化させることができ、被対象細胞に対して最適な設定が可能であり、この点からも細胞へのダメージを小さくすることができる。更に、細胞への挿入以外に微量の吸引と注入を行うマイクロインジェクタとしても利用できることは第1実施例からも明らかである。

【0041】また、コントローラを介して、手動で吸引あるいは注入を行うマイクロマニピュレータ用微小器具として構成できることも明らかである。このように、従来の手動式マイクロインジェクタに比べ、自動で操作できるという利点以外に、上記したマイクロピストン機構をマイクロビベットに極めて近い位置に設置することができるため、配管による応答遅れがなく、応答性の高い操作ができる。

【0042】図7は本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第4の細胞操作工程図である。ここでは、動物細胞の操作について説明する。

(1) まず、図7(a)に示すように、吸着孔62を有する保持ビベット61で動物細胞91を保持した後、動物細胞91の細胞膜92に、マイクロビベット81の先端を接触させる。93は核である。

【0043】(2) 次に、図7(b)に示すように、電磁弁85を閉じて、圧電素子84が縮小するように駆動して、液体86を負圧にして細胞膜92の微小部分を吸着して、その微小部分を弱体化乃至穿通する。

(3) 次に、図7(c)に示すように、電磁弁85は閉じたままで、細胞膜92の弱体化乃至穿通した微小部分にマイクロビベット81を微小移動して、圧電素子84を伸長して、マイクロビベット81内の液体86を駆動して動物細胞91の核93内に注入する。ここで、液体86としては、例えば、薬液、DNA溶液などの物質である。なお、82は凸状のフレーム、83はダイヤフラムである。

【0044】図8は本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第5の細胞操作工程図である。ここでは、植物細胞の操作について説明する。

(1) まず、図8(a)に示すように、吸着孔62を有する保持ビベット61で植物細胞101を保持した後、その植物細胞101の細胞壁102にマイクロビベット81の先端を接触させる。103は細胞膜、104は核である。

【0045】(2) 次に、図8(b)に示すように、電磁弁85を閉じて、凸状のフレーム82とダイヤフラム83間に設けられる圧電素子84が縮小するように駆動して、液体88を負圧にして植物細胞101の細胞壁102の微小部分を吸着して、その微小部分を弱体化乃至穿通する。

(3) 次に、図8(c)に示すように、電磁弁85は閉じたままで、細胞壁102の弱体化乃至穿通した微小部分にマイクロビベット81を微小移動して、圧電素子84を縮小して、マイクロビベット81内の液体88を駆動して液体88を負圧にして植物細胞101から細胞質等をマイクロビベット81に吸入する。

【0046】なお、本発明は上記実施例に限定されるものではなく、本発明の趣旨に基づいて種々の変形が可能であり、これらを本発明の範囲から排除するものではない。

【0047】

【発明の効果】以上、詳細に説明したように、本発明によれば、卵細胞、動物細胞や植物細胞等の細胞内の細胞質に何らダメージを与えることなく、細胞の操作を行うことができる。上記した機構は、換言すれば、マイクロビベットの近傍に配置された圧電素子によるマイクロピストン機構であると言える。

【0048】また、従来の手動式マイクロインジェクタに比べ、自動で操作できるという利点以外に、上記したマイクロピストン機構をマイクロビベットに極めて近い位置に設置することができるため、配管による応答遅れがなく、応答性の高い操作ができる。

【図面の簡単な説明】

30 【図1】本発明の第1実施例を示すマイクロマニピュレーション装置の概略図である。

【図2】本発明の第2実施例を示すマイクロマニピュレーション装置の構成図である。

【図3】本発明の第3実施例を示すマイクロマニピュレーション装置のマイクロビベットによる細胞操作状態を示す図である。

【図4】本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第1の細胞操作工程図である。

40 【図5】本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第2の細胞操作工程図である。

【図6】本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第3の細胞操作工程図である。

【図7】本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第4の細胞操作工程図である。

【図8】本発明のマイクロマニピュレーション装置を用いた第5の細胞操作工程図である。

【図9】従来のマイクロマニピュレーションシステムの全体構成図である。

50 【図10】従来の細胞操作の一例を示す工程図である。
【符号の説明】

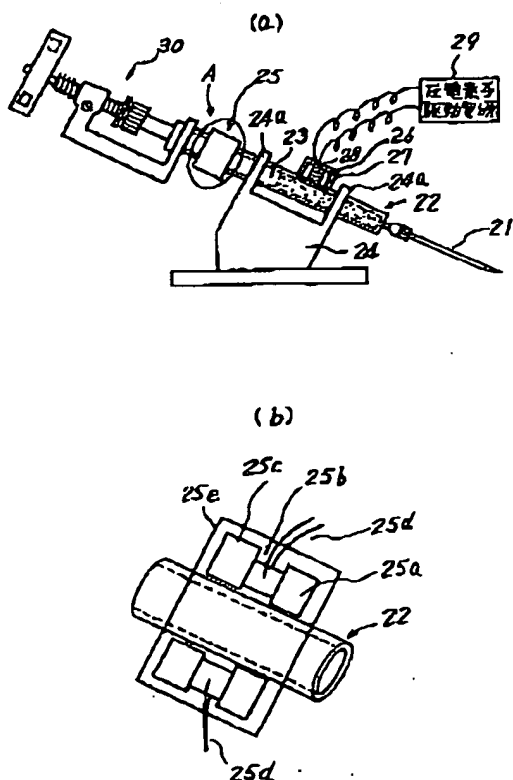
(7)

特開平8-290377

11

- 21, 41, 71, 81 マイクロピペット
- 22, 40 マイクロシリンジ
- 23 プランジャ
- 24, 33 マイクロシリンジホルダ
- 25, 35 微小移動機構
- 25a, 35a 鈎
- 25b, 28, 35b, 56, 84 圧電素子
- 25c, 35c 慣性体
- 25d リード線
- 25e カバー
- 26, 54 チャンバー
- 27, 55, 83 ダイヤフラム
- 29, 58 圧電素子駆動電源
- 30 マイクロインジェクタ
- 31 ベース
- 32 ステージ
- 34 係合部
- 35d リード線
- 50 制御ボックス

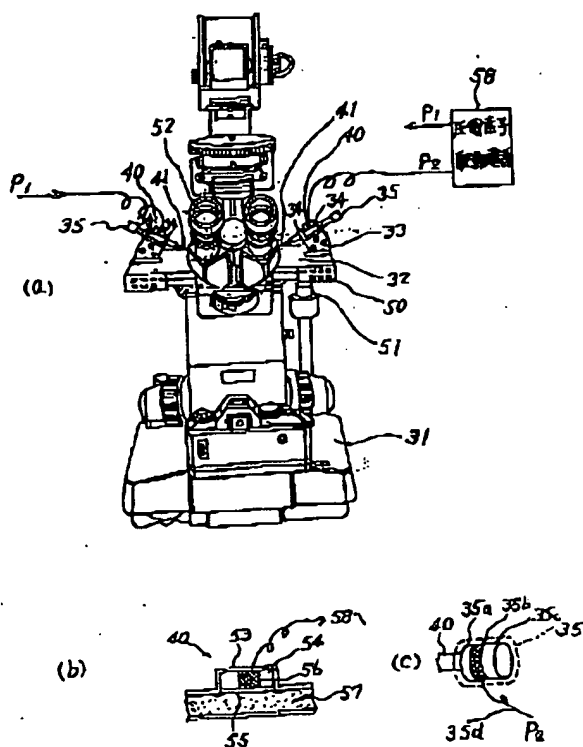
【図1】



12

- 51 位置検出器
- 52 顕微鏡
- 53, 82 凸状のフレーム
- 57 流体
- 61 保持ピペット
- 62 吸着孔
- 63, 63a 卵細胞
- 64 透明帯
- 65, 65a 細胞質
- 66, 66a, 92, 103 細胞膜
- 72 培養液、DNA液や精子を有する浮遊液
- 73 動作流体
- 85 電磁弁
- 86, 87, 88 液体
- 91 動物細胞
- 66, 92, 103 細胞膜
- 93, 104 核
- 101 植物細胞
- 102 細胞壁

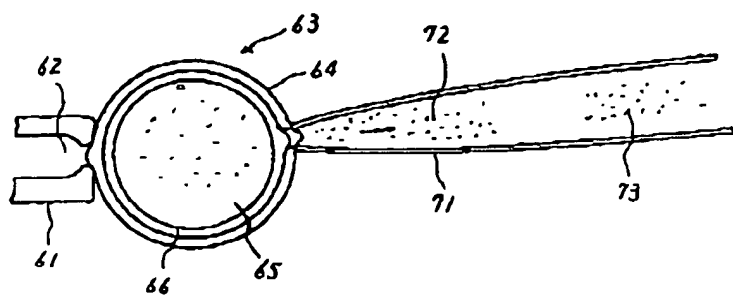
【図2】



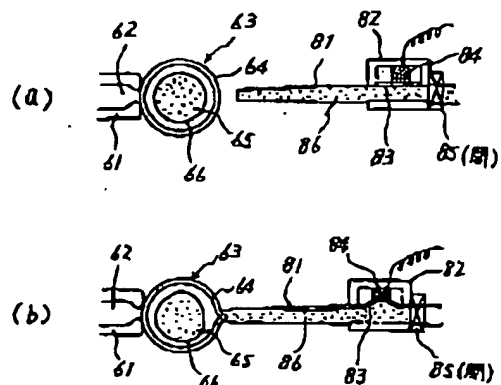
(8)

特開平8-290377

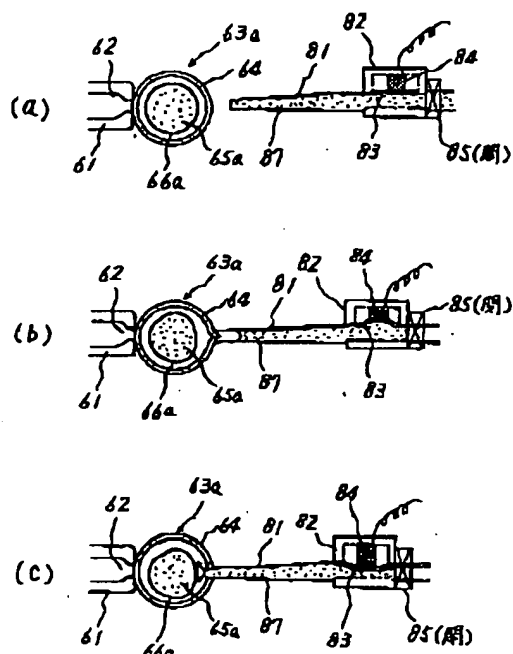
【図3】



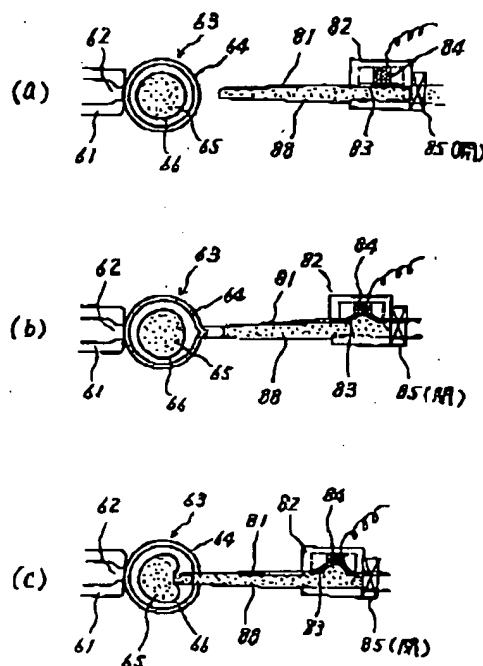
【図4】



【図5】



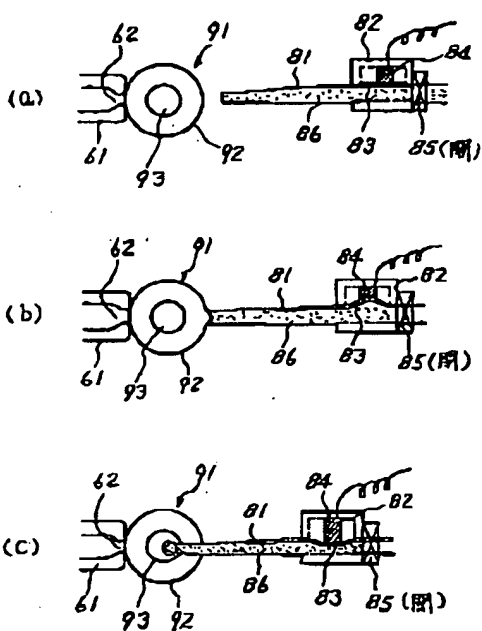
【図6】



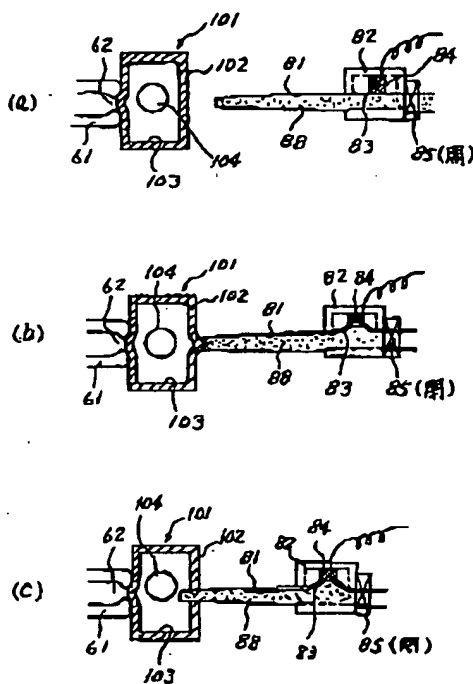
(9)

特開平8-290377

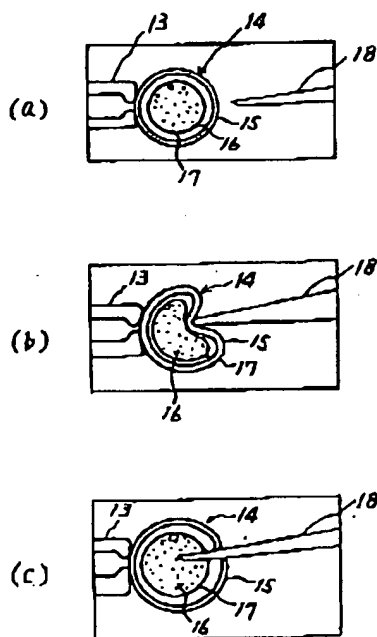
【図7】



【図8】



【図9】



【図10】

